

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： MYCN 遺伝子塩基配列特異的アルキル化による進行神経芽腫に対する新規薬剤開発に関する研究
2. 研究開発代表者： 高取 敦志（千葉県がんセンター（研究所）・がん治療開発グループ）
3. 研究開発の成果

これまでの検討から MYCN 増幅神経芽腫細胞に対して化合物 MYCN-Y が低い IC₅₀ 値を示し、CHP134 細胞を用いた担がんマウスモデルに対する低用量の単回投与により有意な抗腫瘍効果が認められたことから、MYCN-Y の薬理活性をさらに検討することとした。まず、*in vivo* における投与試験や一般毒性試験に用いる MYCN-Y を合成・精製し、今年度の研究開発に必要な化合物量を確保した。得られた化合物を用いて、物性解析を行ったところ、水に対する溶解性が低く、有機溶媒に対する溶解性が高いことが明らかとなり、この化合物の開発における溶媒は Dimethyl sulfoxide を用いることとした。

得られた化合物を用いて *in vivo* における薬理活性をさらに検討するために、2 種類の神経芽腫細胞を用いて担がんマウスに対する単回および複数回投与と実験を行った。その結果、MYCN-Y 投与群では投与量依存的に腫瘍増殖が有意に抑制され、アルキル化剤単独投与による CBI 投与群よりも腫瘍抑制効果が強い傾向が認められた。Log-rank test による評価を行ったところ、MYCN-Y 投与群において有意な生存期間の延長が確認された。また、化合物投与後の体重変動を検討したところ、0.3 mg/kg 体重投与群においても体重の減少は認められなかったことから、最大無毒性量は 0.3 mg/kg 体重以上であることが示唆された。

一方、MYCN-Y の抗腫瘍効果のメカニズムを明らかにすることを目的に、培養細胞における細胞死関連遺伝子の発現解析を行った。その結果、MYCN 遺伝子発現の抑制とともに、p53 発現の増加や PARP の切断などが認められたことから、MYCN-Y 処理により MYCN 増幅神経芽腫細胞は主にアポトーシスにより細胞死に至ることが示唆された。

次にマウスにおける MYCN-Y の最大耐用量について検討した。投与量漸増による投与試験を行ったところ、3 mg/kg 体重の投与量では体重減少は観察されず、肝・肺・腎などの組織の変性等の異常も認められなかった。一方、30 mg/kg 体重を投与した個体では、投与後 24 時間で立毛などの症状が認められた。その後致死には至らなかったが、投与後 72 時間において体重減少が認められ、病理組織においては特に肝臓において空胞変性が認められた。これらのことからマウスにおける MYCN-Y の最大耐用量を 3 mg/kg 体重とした。

最大耐用量が 3 mg/kg 体重であったことから、この投与量による急性毒性試験および慢性毒性試験を行った。その結果、急性および慢性毒性試験のどちらにおいても、体重減少は認められず、modified-SHIRPA 試験において異常を示す個体は認められなかった。血液生化学検査および尿検査においても、肝機能や腎機能に異常を示す所見は認められなかった。以上の結果より、マウスにおける最小薬効量（0.1 mg/kg 体重）の 30 倍である 3 mg/kg 体重の MYCN-Y の静脈内単回投与においては毒性が非常に低いことが明らかとなった。

以上の結果から、本研究開発課題のマイルストーンであった MYCN-Y の薬理効果の確認および MYCN-Y の最大耐用量の決定について達成することができた。